(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2006-340641
(P2006-340641A)
(43)公開日　平成18年12月21日(2006.12.21)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 1/14	(2006.01)	C12N	1/14	A	4B024
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	A	4B063
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B065
		C12N	15/00	A	

審査請求 未請求　請求項の数 6　OL　（全 10 頁）

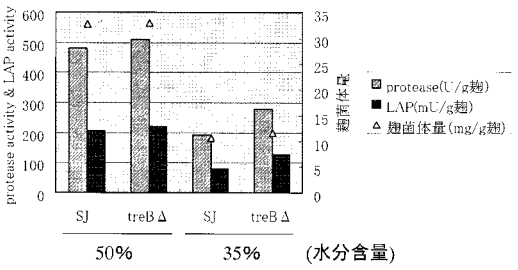
(21)出願番号　特願2005-168129 (P2005-168129)
(22)出願日　平成17年6月8日 (2005.6.8)

(71)出願人　000004477
キッコーマン株式会社
千葉県野田市野田２５０番地
(74)代理人　100100181
弁理士　阿部　正博
(72)発明者　松田　俊文
千葉県野田市野田２５０番地　キッコーマン株式会社内
(72)発明者　原　精一
千葉県野田市野田３９９番地　財団法人野田産業科学研究所内
(72)発明者　小山　泰二
千葉県野田市野田２５０番地　キッコーマン株式会社内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】中性トレハラーゼ遺伝子破壊麹菌

(57)【要約】
【課題】醸造用麹の製造法において原料の盛込み水分が通常よりも低水分でも旺盛に繁殖し、生育速度が早い麹菌、及び該麹菌を用いる醸造用麹の製造方法を提供すること。
【解決手段】菌体又は分生子内のトレハロースの分解能が欠損した麹菌、特に、中性トレハラーゼ遺伝子等のトレハロースの分解に関与する遺伝子が破壊された麹菌、該麹菌を植物由来あるいは動物由来のタンパク質原料に接種、培養することを特徴とする醸造用麹の製造法。
【選択図】図２



中性トレハラーゼ遺伝子破壊株の酵素活性と菌体量

【特許請求の範囲】
【請求項１】
菌体又は分生子内のトレハロースの分解能が欠損した麹菌。
【請求項２】
遺伝子操作により得られた、請求項１記載の麹菌。
【請求項３】
中性トレハラーゼ遺伝子が破壊された請求項１又は２記載の麹菌。
【請求項４】
請求項１～３のいずれか一項に記載の麹菌を植物由来あるいは動物由来のタンパク質原料に接種、培養することを特徴とする醸造用麹の製造法。
【請求項５】
請求項１～３のいずれか一項に記載の麹菌の表現型を利用したスクリーニング方法。
【請求項６】
表現系が耐熱性である請求項５記載のスクリーニング方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、醸造用麹の製造法において盛込み水分が低水分でも旺盛に繁殖し、生育速度が速い麹菌及び該麹菌を用いる醸造用麹の製造法等に関する。
【背景技術】
【０００２】
醤油、味噌、清酒、みりん等の醸造食品は大豆、麦、米などの穀類に麹菌を繁殖させて麹を作り、この麹をそのままか、または蒸煮変性または加熱殺菌した穀類と併用して、水、アルコール、食塩水などと共に仕込み、発酵熟成させて製造しているが、ここに用いる麹は直接に醸造期間、品質及び収量などに大きな影響を与えるために、製麹操作は上記した醸造用原料に麹菌をできる限り純粋に培養すると共に、醸造上重要なプロテアーゼ、アミラーゼなどの諸酵素を著量に分泌蓄積せしめることに最大の考慮が払われている。
【０００３】
しかしながら、醸造食品業界においては、一般に製麹は開放下において行われており、また蒸煮変性、加熱殺菌処理後の醸造用原料は、細菌が好んで繁殖しやすい状態にあるため、製麹中に有害細菌の混入を防止し、その増殖を抑制することは殆ど不可能である。
【０００４】
従来、蒸煮変性、加熱殺菌処理後の醸造用原料の水分を低くすると、製麹中に有害細菌の生育、増殖を抑制できることが知られ、検討されてきたが、水分を低くすると、製麹中に麹菌の生育、増殖も抑制されるため、実施は困難とされ、今日に至っている。
【０００５】
このようなことから、原料の盛込み水分が低水分でも旺盛に繁殖し、プロテアーゼ等の酵素活性が損なわれず、生育速度が速い麹菌の出現が強く求められていた。
【０００６】
しかしながら、生育速度が速い麹菌の育種は、紫外線照射等の人工変異処理による方法が一般的であるが、紫外線照射等の変異処理による育種（すなわち変異株の分離）は極めて偶然性が高く、スクリーニングに膨大な労力を要し、効率が極めて悪い欠点を有する。また、たまたま目的とする生育速度が速い麹菌を育種しても、直ちに復帰突然変異を起こし、生育速度が著しく遅くなったりして、実用性に欠けるものであった。また、低水分の盛込み原料でも旺盛に生育、増殖する麹菌の育種法は特開2004－290142（特許文献１）と特開2004－290155（特許文献２）が知られているが、前段階の培養にグルコースや食塩を添加する必要があった。尚、特開平10－117771には中性トレハラーゼ遺伝子が破壊された、冷凍生地耐性１倍体酵母が記載されている。
【０００７】
【特許文献１】特開2004－290142

【特許文献２】特開2004－290155
【特許文献３】特開平10－117771
【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【０００８】
本発明は、醸造用麹の製造法において原料の盛込み水分が通常よりも低水分でも旺盛に繁殖し、生育速度が早い麹菌、及び該麹菌を用いる醸造用麹の製造方法を提供することを目的とする。
【課題を解決するための手段】
【０００９】
本発明者等は、上記課題について鋭意検討を重ねた結果、アスペルギルス・ソーヤ（Aspergillus sojae）に代表される麹菌を低水分環境で生育させたときに分生子内に顕著にトレハロースが増加することを知り、分生子内のトレハロースを分解することができない変異株を取得し、低水分環境での生育を確認し、本発明を完成した。
【００１０】
即ち、本発明は以下の各態様に係るものである。
１．菌体又は分生子内のトレハロースの分解能が欠損した麹菌。
２．遺伝子操作により得られた、上記１記載の麹菌。
３．中性トレハラーゼ遺伝子が破壊された上記１又は２記載の麹菌。
４．上記１～３のいずれか一項に記載の麹菌を植物由来あるいは動物由来のタンパク質原料に接種、培養することを特徴とする醸造用麹の製造法。
５．上記１～３のいずれか一項に記載の麹菌の表現型を利用したスクリーニング方法。
６．表現系が耐熱性である上記５記載のスクリーニング方法。
【発明の効果】
【００１１】
本発明の麹菌は水分量を制限した固体培地においても旺盛に生育し、各種酵素を分泌することができるため、醸造等の産業上極めて有用である。
【発明を実施するための最良の形態】
【００１２】
以下、本発明について詳細に説明する。
本明細書において、「麹菌」とは、醤油、清酒、焼酎、みそ、みりん等の醸造において麹の製造に使用されている、不完全菌亜門、不完全糸状菌網の一属であるカビ類を意味する。アスペリギルス・ソーエー（しょうゆ製造用）、アスペリギルス・オリゼ（清酒製造用）、アスペリギルス・アワモリ（泡盛製造用）、及びアスペリギルス・シロウサミ（焼酎製造用）等のアスペリギルス属に属する菌がその代表例である。
【００１３】
本明細書において、「トレハロースの分解能が欠損した麹菌」とは、菌体又は分生子内でトレハロースの分解・資化する機能又は能力が実質的に欠失又は損傷している麹菌をいう。従って、このような麹菌は、麹菌のトレハロースの分解プロセスに関与する任意の過程、例えば、このような過程に関与する任意の遺伝子の発現、転写、翻訳等を当業者に公知の任意の遺伝子工学的方法を用いる遺伝子操作によって、調製することができる。
【００１４】
即ち、麹菌の菌体もしくは分生子内のトレハロースの分解能を欠損させる手段としては、例えば、中性トレハラーゼ遺伝子のトレハロースの分解に関与する遺伝子を遺伝子挿入破壊や遺伝子置換破壊等によって破壊する方法、RNAi等のＲＮＡサイレンシング又はアンチセンスｍＲＮＡを利用して該遺伝子のｍＲＮＡを分解したりタンパク質への翻訳を阻害する方法等を挙げることが出来る。これらの手段はいずれも、下記の実施例に示すように、当該遺伝子又はそれらがコードするタンパク質の一部塩基配列又はアミノ酸配列情報に基き、当業者に公知の遺伝子工学的方法を用いて容易に実施することができる。又、公知の様々な突然変異誘発の手法により取得することも可能である。

【００１５】
なお、本発明における遺伝子工学的方法は、例えば、「Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd edition」（１９８９）、Cold Spring Harbor Laboratory Press, ISBN 0-8769-309-6、「Current Protocols in Molecular Biology」（１９８９）、John Wiely &Sons, Inc. ISBN 0-471-50338-X等の記載に準じて実施可能である。
【００１６】
例えば、上記遺伝子は、アスペルギルス・ソーヤ等の麹菌の染色体DNAの天然型遺伝子をクローニングすることにより得られる。遺伝子のクローニング方法としては、例えば、中性トレハラーゼを精製して部分アミノ酸配列を決定した後、適当なプローブDNAを合成し、これを用いて麹菌の染色体DNAからスクリーニングする方法が挙げられる。又、部分アミノ酸配列に基づき適当なプライマーDNAを作製して、５’-ＲＡＣＥ法又は３’-ＲＡＣＥ法等の適当なポリメラーゼ連鎖反応（以下、ＰＣＲ法と略称する。）により、該遺伝子の断片を含むDNAを増幅させ、これらを連結させて全長の遺伝子を含むDNAを得る方法も挙げられる。
【００１７】
より詳細には、天然型中性トレハラーゼ（treB）遺伝子は、以下のようにして取得できる。先ず、アスペルギルス・ソーヤATCC42251 (Aspergillus sojae Sakaguchi et Yamada)の分生子をマルチビーズショッカーで破砕し、通常の方法により染色体DNAを抽出する。該抽出操作には、市販のDNA抽出キットが利用できる。
【００１８】
アスペルギルスオリゼーのゲノムデータベースを参考としてPCRに用いるプライマーを合成する。このプライマーDNAと上記のようにして得られた染色体DNAを使用し、PCR反応により、該遺伝子の全長を含むDNAを増幅する。増幅されたDNAは、通常の方法に準じてクローニングできる。
【００１９】
増幅されたDNAを適当なベクターに挿入して組み換え体DNAを得る。クローニングには、TA Cloning Kit (Invitrogen社)等の市販のキットあるいは、pUC119（宝酒造社製）、pBR322（宝酒造社製）、pBluescript SK+（Stratagene社製）等の市販のプラスミドベクターDNA、λEMBL3（Stratagene社製）等の市販のバクテリオファージベクターDNAが使用できる。
【００２０】
得られた組み換え体DNAを用いて、例えば、大腸菌K-12、好ましくは大腸菌JM109（宝酒造社製）、XL-Blue（Stratagene社製）等を形質転換又は形質導入して、夫々形質転換体又は形質導入体を得る。形質転換は、例えば、D.M.Morrisonの方法（Methods in Enzymology, 68, 326-331, 1979）により行なうことができる。また、形質導入は、例えば、B.Hohnの方法（Methods in Enzymology, 68, 299-309, 1979）により行なうことができる。宿主細胞としては、大腸菌の他、他の細菌、酵母、糸状菌、放線菌等の微生物や動物細胞、植物細胞等が利用できる。
【００２１】
上記で増幅されたDNAの全塩基配列（配列番号７参照）は、例えば、Li-COR MODEL 4200 Lシークエンサー（アロカ社より購入）、370DNAシークエンスシステム（パーキンエルマー社製）、CEQ2000XL DNAアナリシスシステム（ベックマン社製）を用いて解析できる。塩基配列を、アスペルギルスオリゼーのゲノムデータベースと比較することにより、天然型中性トレハラーゼ遺伝子が取得できたか否かを確認することができる。
【実施例】
【００２２】
以下、実施例により本発明を更に具体的に説明する。
（１） アスペルギルス（Aspergillus）属菌における中性トレハラーゼ相同遺伝子の検索
アスペルギルス・ニデュランス由来の中性トレハラーゼのアミノ酸配列に相同性を持つ

タンパク質をコードする遺伝子を、アスペルギルス・オリゼーのゲノムデータベースから検索したところ、２１９６塩基からなるゲノムクローン Con0885_h_160を得た。該クローンを中性トレハラーゼ遺伝子の断片であると推定し、該遺伝子の染色体DNAのクローニングを行った。

【００２３】

アスペルギルス・ソーヤ（Aspergillus sojae）からの染色体DNA抽出

アスペルギルス・ソーヤATCC42251（Aspergillus sojae Sakaguchi et Yamada）の分生子をマルチビーズショッカー（安井器械社製）を用いて0.5mmのガラスビーズで１５００rpm、４８０秒間破砕を行い、Wizard Genomic DNA Purification Kit（promega社製）を用いて染色体DNAを抽出した。全ての操作は添付のプロトコールに従った。

【００２４】

（２） PCRによる中性トレハラーゼ染色体ＤNAの取得

上記で得られた染色体DNA約20μgを鋳型にPCRにより中性トレハラーゼ遺伝子の取得を行った。PCRに使用するプライマーとしてゲノムクローン Con0885_h_160に対してセンス、アンチセンスのプライマー配列番号１と配列番号２で夫々表されるオリゴDNAを合成した。PCRの装置としてGeneAmp5700 DNA detection system （Perkin Elmer社製）を使用した。抽出した染色体DNAを鋳型に用いてPCR（95℃30秒、56℃30秒、72℃2分、30サイクル）を行った結果、約2.5kbのDNA断片の増幅を確認した。

【００２５】

増幅されたDNA断片を0.7%アガロースゲル中で分離し、QIAquick Gel Extraction Kit（QIAGEN社製）を用いて抽出した。操作は添付のプロトコールに従った。抽出されたDNA断片は、TOPO TA Cloning Kit（Invitrogen社製）を用いてpCR TOPOベクターに組み込んだ。得られた組み換え体プラスミドは、BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit（アプライドバイオシステムズ社製）を用いてシークエンス反応を行い、ABI DNAシークエンサーPRISM 377（アプライドバイオシステムズ社製）で塩基配列を決定した。シークエンスには配列番号１、２、３、４、５、及び６のプライマーを用いた。その結果、配列番号7に示す約2.5kbのＤＮＡ配列が明らかとなり、ゲノムクローンCon0885_h_160はその内部に含まれることが明らかとなった。

【００２６】

（３）中性トレハラーゼ遺伝子破壊株の作製

中性トレハラーゼ遺伝子破壊はTakahashi等の方法（Mol Gen Genomics(2004) 272: 344-352）と畑本等の方法（特開2001－46053）に従って行った。

【００２７】

遺伝子破壊ベクターを作成するにあたり、麹菌遺伝子破壊カセットベクターを構築した。特開2001－46053記載のプラスミドpMWPX-2のPstI-SphIサイトに配列番号８と９の合成DNAをアニーリングさせた断片を挿入した。この挿入断片には制限酵素PacI、Sse8387I、FseI、NotIの認識配列が含まれている。このFseIとSse8387IサイトにpyrG遺伝子を連結した。連結したpyrG遺伝子は配列番号１０と１１のPCRプライマーで増幅し、TA-クローニング後、FseIとSse8387Iで処理した。得られたプラスミドを麹菌遺伝子破壊カセットベクターとして用いた。

【００２８】

treB遺伝子の５’－領域と３’－領域を増幅するために配列番号１と３、２と４の組み合わせでアスペルギルス・ソーヤの染色体DNAを鋳型にPCRプライマーを用いてPCR（９５℃３０秒、５６℃３０秒、７２℃１分、３０サイクル）を行った。増幅した１１５７塩基と１１９９塩基の断片をTOPO-TA cloning Kitによりクローニングをし、それぞれのクローンをPCRプライマー内に付加した制限酵素認識部位を切断する酵素NotI、FseI、Sse8387I、PacIを用いてそれぞれ切り出し、麹菌遺伝子破壊カセットベクターに連結した。

【００２９】

麹菌遺伝子破壊カセットベクターを鋳型にpUC19に含まれるM-13 forwardとM-13 reverseのプライマーで増幅した断片をアスペルギルス・ソーヤATCC42251 pyrG－株へ導入した

。遺伝子破壊の確認はサザンブロット法とPCRにより行い、中性トレハラーゼ遺伝子破壊株treBΔが得られた。

【００３０】

（４）　中性トレハラーゼ遺伝子破壊株のトレハロース分解能測定

中性トレハラーゼ遺伝子破壊株の胞子を１×１０^{9}個/mlになるようポリペプトン・デキストリン培地（２％デキストリン、１％ポリペプトン、０．５％KH_2PO_4、０．１％$NaNO_3$、０．０５％$MgSO_4$・７H_2O、０．１％カザミノ酸）に懸濁し、３０℃で培養した。培養開始から3時間まで３０分毎に１mlをサンプリングし、トレハロース量測定サンプルの調製を行った。サンプリングした液を遠心分離により、集菌し、１mlの冷Tween-SDS溶液に懸濁し、菌体の洗浄を行い、これを3回繰り返した。洗浄後の沈殿を１mlの滅菌水に懸濁し、沸騰浴水中に２０分間置き、酵素の失活を行った後、氷冷した。このサンプルをUltrafree-MC（ミリポア社製）でろ過し、液体クロマトグラフィーでの測定に用いた。液体クロマトグラフィーは以下の条件で使用した。カラム：amide-80（４．６×２５０mm、東ソー社製）、カラム温度：３５℃、溶離液：acetonitrile:water = ６５：３５、流速：１ml/min、検出：RI。測定結果を図１に示す。親株のSJが培養の時間経過と共にトレハロース量が減少しているのに対して、中性トレハラーゼ遺伝子破壊株treBΔはトレハロース量が変わらず、分解されていないことが確認できた。

【００３１】

（５）中性トレハラーゼ遺伝子破壊株の固体培養

得られた中性トレハラーゼ遺伝子破壊株の分生子を麦芽エキス寒天平板培地（２％麦芽エキス、０．１％バクトペプトン、２％グルコース、２％寒天）上で３０℃、７日間培養し、分生子を得た。分生子は３０ｍｌのTween溶液に懸濁し、セルストレイナー（BDファルコン社製）に通し、菌糸を除いた。通過液中の分生子を遠心分離で集め、１×１０^{8}個/ｍｌになるよう滅菌水で希釈し、分生子懸濁液を得た。

【００３２】

オートクレーブ滅菌後、水分含量を測定した小麦フスマ（精選ふすま、日清製粉社製）２．５ｇを乾熱滅菌した１５０ｍｌ容三角フラスコに秤量し、綿栓をした。ここへ１００μlの分生子懸濁液植菌後に水分含量が５０％、３５％になるよう滅菌水を加えた。このフスマ培地に１００μlの分生子懸濁液を接種し、３０℃、６４時間培養した。

【００３３】

こうして得られたフスマ麹の麹菌体量とプロテアーゼ活性、ロイシンアミノペプチダーゼ（LAP）活性を測定し、麹菌の生育を調べた。

【００３４】

（６）　麹菌体量と酵素活性の測定

麹菌体量の測定は麹菌量測定キット（キッコーマン社製）を用いた。すなわち、培養したフスマ麹の麹菌を溶菌させた後、遊離したN－アセチルグルコサミンを定量した。キットの取扱説明書に従い、まず、培養した麹をガラスシャーレにあけ、１００℃の乾熱器で１時間乾燥させた。乾燥した麹を卓上粉砕機（柴田科学機械工業SCM-40A）で粉砕した後、０．２５ｇをキット別売りのろ過器に量り取り、レジン水で洗浄した。キムタオル上で余分な水を切った後、小試験管に移した、これにキットの溶菌緩衝液０．５ｍｌと溶菌酵素液２．０ｍｌを加え、３７℃で４時間溶菌反応を行った。ブランク試験では溶菌酵素液の代わりに溶菌緩衝液を用いた。反応後、遠心分離により沈殿と上清に分け、上清を溶菌緩衝液で５倍希釈した。これに１．０mlの定量用酵素液と２．０mlの定量用発色液を加え、３７℃で２５分間加温した後、５１５nmの吸光度を測定することによりN-アセチルグルコサミンの量を求めた。

【００３５】

プロテアーゼ活性の測定はしょうゆ試験法（財団法人日本醤油研究所編）に従って行った。すなわち培養したフスマ麹に５０ｍｌのレジン水を注ぎ、よく混和した後No.2のろ紙（アドバンテック社製）を用いてろ過を行い、フスマ麹抽出液を得た。小試験管中で１０００μｌミルクカゼイン（メルク社製）と９００μｌレジン水、１００μｌフスマ麹抽出

液を入れ、緩やかに混和し、３０℃で２０分間反応させた。４ｍｌの５％トリクロロ酢酸を加えて反応を止め、さらに３０℃で３０分間静置した。ブランク試験には反応前にトリクロロ酢酸を加えたものを用いた。反応液をNo.５Cのろ紙でろ過し、透過液１ｍｌを５ｍｌの０．４M 炭酸ナトリウムと１ｍｌのフェノール試薬と混和し、３０℃で３０分間発色反応を行った後、６６０nmの吸光度を測定した。１分間にチロシン１μｇに相当する非タンパク性物質を遊離させる酵素量を１ユニットとして、フスマ麹１ｇ当たりのプロテアーゼ活性を求めた。

【００３６】

LAP活性は次のように測定した。９００μｌの１００mMリン酸ナトリウムバッファー（pH７．０）と５０μｌのフスマ抽出液をマイクロチューブ内で混合し、５０μｌの１０mM Leucine-p-nitroanilideを加え、３７℃で反応させた。３０分後、５００μｌの反応液を１．５mlの０．１規定塩酸の入ったチューブへ移し、反応を止めた後、４００nmの吸光度を測定した。ブランク試験にはサンプルの代わりに水を用いて測定した。１分間に１μmolのp-nitoroanilineを生成する酵素量を１ユニットとして、フスマ麹１ｇ当たりのLAP活性を求めた。

【００３７】

酵素活性の測定結果を表１及び図２に示す。本発明の麹菌は水分含量を制限した３５％水分含量フスマ培地において、コントロールとなる親株と比較してプロテアーゼ活性とLAP活性が１５％以上、麹菌体量が約３％増加していた。

【００３８】

【表１】

	protease(U/g麹)	LAP(mU/g麹)	菌体量(mg/g麹)
SJ 50%	479.1	205.6	32.6
treBΔ 50%	509.6	220.8	32.8
SJ 35%	192.1	79.1	10.5
treBΔ 35%	276.9	124.7	11.5

【００３９】

（７）中性トレハラーゼ遺伝子破壊株の表現型確認

中性トレハラーゼ欠損株を遺伝子組み換えの手法ではなく、突然変異誘発の手法により取得する可能性を検討した。即ち、中性トレハラーゼ遺伝子破壊株の表現型の一つとして菌の耐熱性を調べた。親株SJと中性トレハラーゼ遺伝子破壊株treBΔの分生子を５mlポリペプトン・デキストリン培地に1×10^{8}個/mlになるよう植菌し、３０℃で培養を行った。培養開始から3時間後、５０℃のインキュベーターへ移し、３０分毎に2時間まで１００μｌずつサンプリングし、希釈を行い、麦芽エキス寒天培地に塗布し、３０℃で培養を行った。生育してきたコロニーを数え、５０℃未処理の菌数を１００％として生存率を求めた。図３に示すように、５０℃、３０分の処理で、ＳＪは１０％以下の生存率であったのに対して、treBΔでは７０％程が生存していた。従って、トレハロースを蓄積する株は耐熱性が上昇しており、この性質を利用して、本発明の生地菌であるトレハロース蓄積株をスクリーニングすることが可能になる。

【産業上の利用可能性】

【００４０】

本発明の麹菌を用いることによって、醤油、味噌、清酒、みりんなどの醸造食品製造において、原料の盛り込み水分が通常よりも低水分でも生育速度が速く、旺盛に繁殖し、プロテアーゼおよびLAPなどの諸酵素力価が高く、雑菌の増殖が少なく、高品質の麹を製造することができる。

【図面の簡単な説明】

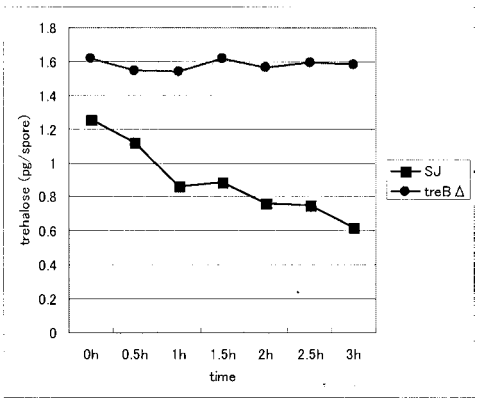
【００４１】

【図１】本発明の中性トレハラーゼ遺伝子破壊株と親株の発芽時におけるトレハロース含量の比較を示すグラフである。

【図２】本発明の中性トレハラーゼ遺伝子破壊株と親株の酵素活性と菌体量の比較を示すグラフである。

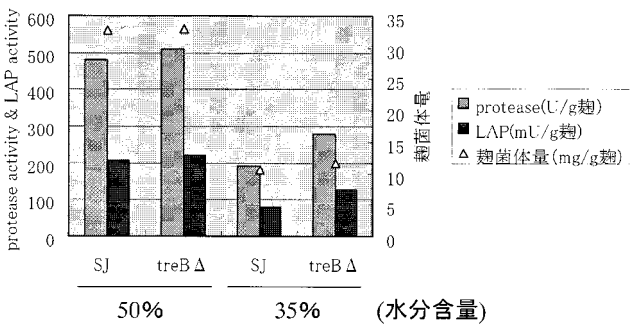
【図３】本発明の中性トレハラーゼ遺伝子破壊株と親株の胞子を５０℃にさらしたときの生存率の比較を示すグラフである。

【図１】



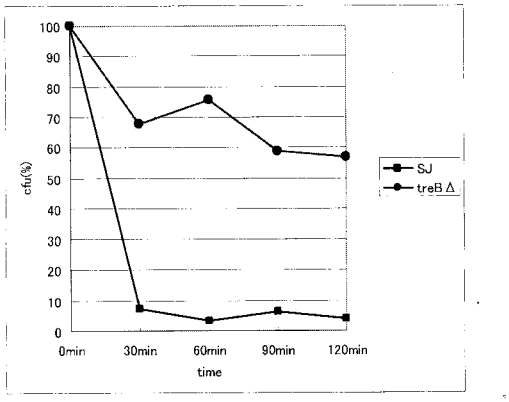
発芽時における胞子内のトレハロース含量

【図２】



中性トレハラーゼ遺伝子破壊株の酵素活性と菌体量

【図３】



胞子を50℃にさらしたときの生存率の比較

【配列表】
2006340641000001.app

フロントページの続き

(72)発明者　海附　玄龍
千葉県野田市野田３９９番地　財団法人　野田産業科学研究所内
(72)発明者　畑本　修
千葉県野田市野田３９９番地　財団法人　野田産業科学研究所内

Ｆターム(参考) 4B024 AA05 BA11 CA02 DA11 GA11 HA12 HA20
4B063 QA17 QA20 QQ07 QQ35 QQ44 QR32 QR55 QS34 QX01
4B065 AA60X AA60Y AB01 AC02 AC20 BA01 BA16 BB19 BB23 BB26
CA42